

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
20. Dezember 2001 (20.12.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/95855 A2**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **A61K**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/06831

(22) Internationales Anmeldedatum:  
15. Juni 2001 (15.06.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
100 28 971.1 16. Juni 2000 (16.06.2000) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: **TSCHESCHE, Harald** [DE/DE]; Universitätsstr. 25, 33615 Bielefeld (DE). **FARR, Martin** [DE/DE]; Universitätsstr. 25, 33615 Bielefeld (DE).

(74) Anwälte: **BOETERS, Hans** usw.; Boeters & Bauer, Bereiteranger 15, 81541 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,

CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: PREGNANCY-ASSOCIATED PLASMA PROTEIN-E (PAPP-E)

(54) Bezeichnung: PREGNANCY-ASSOCIATED PLASMA-PROTEIN-E (PAPP-E)

(57) Abstract: The invention relates to pregnancy-associated plasma protein-E (PAPP-E).

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft das Pregnancy-associated Plasma-Protein-E (PAAP-E).

WO 01/95855 A2

5           **Pregnancy-associated Plasma-Protein-E (PAPP-E)**

10

Die Erfindung betrifft das Pregnancy-associated Plasma-Pro-  
15 tein-E (PAPP-E).

Eine Aufstellung der in der folgenden Schilderung des Standes  
der Technik in Bezug genommenen Literaturstellen mit genau-  
eren bibliographischen Angaben findet sich am Ende dieser  
20 Beschreibung.

Mit immunologischen Methoden wurden im humanen maternalen Se-  
rum der letzten Schwangerschaftswochen vier Plasmaproteine  
nachgewiesen und *Pregnancy-associated Plasma Proteins* (PAPP-  
25 A, -B, -C und -D) genannt [Gall 1972, Lin 1974]. Während es  
sich bei PAPP-C und -D um das schwangerschaftsspezifische  $\beta_1$ -  
Glykoprotein beziehungsweise das plazentale Laktogen handelte  
[Lin 1974, Bohn 1971], waren PAPP-A und -B neue Proteine. Im  
Gegensatz zu PAPP-B, das als ein 1300 kDa großes Oktamer aus  
30 vermutlich identischen, 74 kDa schweren Untereinheiten be-  
schrieben wurde [Bossi 1993], ist PAPP-A ein Monomer und  
bildet einen etwa 800 kDa schweren disulfidverbrückten 2:2-  
Komplex mit der stark glykosylierten Proform des *Eosinophil*

*Major Basic Proteins* (proMBP) [Oxvig 1993]. Dieser Komplex ist 4-6 Wochen nach der Konzeption im maternalen Serum nachweisbar und erreicht gegen Ende der Schwangerschaft Konzentrationen von etwa 50 mg/l [Folkersen 1981, Westergaard 1983]. Die Hauptquelle des PAPP-A/proMBP-Komplexes, der im Fetus nicht vorkommt, scheint das trophoblastische Gewebe der Plazenta zu sein [Bonno 1994]. Nach der Geburt verschwindet der Komplex aus der Zirkulation mit einer Halbwertszeit von drei bis vier Tagen [Lin 1976]. Der PAPP-A/proMBP-Komplex ist auch bei nicht schwangeren Frauen nachweisbar, und zwar in niedrigen Konzentrationen in den Granulosazellen, der Follikelflüssigkeit der Ovarien, in der Oviduktmucosa, der Zervixmucosa und dem Endometrium [Sinovich 1984, Sjöberg 1984 und 1986]. Ebenso sind niedrige Konzentrationen beim Mann gemessen worden, nämlich in Testis und Seminalplasma [Klopper 1985].

In den letzten Jahren wurde durch zahlreiche Studien dokumentiert, daß PAPP-A als diagnostischer Marker für fetale Trisomie 21 (Down-Syndrom) im maternalen Serum des ersten Trimesters der Schwangerschaft genutzt werden kann. Im Vergleich zu normal verlaufenden Schwangerschaften ist die PAPP-A/proMBP-Konzentration, gemessen zwischen der sechsten und vierzehnten Schwangerschaftswoche, um 50 bis 77 Prozent reduziert [Pandya 1995]. Je nach Kombination mit weiteren Markern, insbesondere der freien  $\beta$ -Untereinheit des humanen Choriongonadotropin ( $\beta$ hCG), der Ultraschallmessung der fetalen Nackentransparenz und dem Alter der Schwangeren, können 76 bis 87% der Schwangerschaften mit Trisomie 21 im ersten Trimester nicht-invasiv erkannt werden [u.a. De Graaf 1999]. Entsprechendes gilt für die Trisomien 13, 18 und 22 [Bersinger 1994, Wheeler 1996, Biagotti 1998].

1993 und 1994 erfolgten die Lokalisierung des PAPP-A Genes auf Chromosom 9 und die Klonierung der vollständigen cDNA-Sequenz [Silahtaroglu 1993, Kristensen 1994]. Das 1547 Aminosäuren große PAPP-A entsteht aus einem größeren Propeptid und umfaßt 82 Cysteinreste, die alle verbrückt sind, sowie 14 potentielle N-Glykosylierungsstellen und 7 mögliche Stellen für Glykosaminoglykan-Gruppen [Kristensen 1994]. Obwohl PAPP-A insgesamt keine Homologie zu anderen Proteinen besitzt, existieren C-terminal fünf jeweils ungefähr 60 Reste umfassende Motive, die ähnlich in Komplement regulierenden Proteinen und Selektinen vorkommen [Kristensen 1987 und 1994, Reid 1989]. Darüber hinaus beinhaltet die PAPP-A Sequenz drei etwa 30 Reste lange Motive, die mit den *Lin-notch* Motiven in homeotischen Proteinen der frühen Gewebsdifferenzierung bei *C. elegans*, *D. Melanogaster* und *X. laevis* verwandt sind [Kristensen 1994].

Zudem verfügt PAPP-A über ein potentielles Zinkbindungsmotiv mit potentielltem Met-Turn, wie es in den Astacinen, Ser-  
20 ralysinen, Adamalysinen einschließlich einiger ADAMs und Matrixmetalloproteinasen vorkommt [Stöcker 1995, Bode 1996]. Vor kurzem wurde gezeigt, daß proteolytische Aktivität gegenüber dem *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-4* (IGFBP-4) besteht [Lawrence 1999]. Hierdurch würde regulato-  
25 risch in die sogenannte "IGF-Achse" eingegriffen werden. Sie umfaßt die beiden *Insulin-like Growth Factors* (IGF-I und -II), die *Insulin-like Growth Factor Binding Proteins* (IGFBP-1 bis -6), IGFBP-spaltende Proteinase und die IGF-Rezeptoren (vorallem IGF-IR) [Bayes-Genis 1999].

30

Um für ihre biologische Signalwirkung zur Verfügung zu stehen, müssen die IGFs aus den Komplexen mit ihren Bindungspro-

teinen freigesetzt werden. Dieses kann durch die Serinproteinasen Plasmin und Thrombin [Angelloz-Nicoud 1996, Zheng 1998], die Matrixmetalloproteinasen MMP-1, -2 und -3 (Kollagenase 1, Gelatinase A und Stromelysin 1) [Fowlkes 1994],  
5 sowie durch PAPP-A geschehen [Lawrence 1999], indem diese die Bindungsproteine spalten. Anschließend können die freien IGFs an ihre Rezeptoren binden, insbesondere den IGF-IR, der als Rezeptor-Tyrosinkinase verschiedene intrazelluläre Signalwege initiiert. Diese führen schließlich zu den pleiotropen Effekten  
10 der IGF-Achse wie Proliferation, Differenzierung und dem Schutz vor Apoptose [Butt 1999], aber auch zu pathobiochemischen Prozessen beispielsweise bei Herzerkrankungen oder Krebs [Ren 1999, Yu 1999].

15 Die Erfindung betrifft nun eine cDNA-Sequenz, die das humane Pregnancy-associated Plasma-Protein-E (PAPP-E) kodiert.

Die erfindungsgemäße DNA-Sequenz umfaßt eine DNA-Sequenz, die ausgewählt ist unter

20

(a) der folgenden DNA-Sequenz:

tccgagggcgcccgggcaggtgttctgccaactctgagctgggctggacacgcaagaaatcc  
ttggttgagaggggaacacctgaatcaggtgctgttggaaggagaacgttggtggctgggggc  
25 caaggttcgaagacccagagcttctccacagcatcacctctttggagtctaccccagcaggg  
ctgggaactacctaaggccctaccccgctgggggagcaagaaatccatcatacaggacgcgac  
aaaccagacactgaaggaaatgctgtgagccttggtcccccagacctgactgaaaatccagc  
aggactgaggggtgcagttgaagagccggctgccccatgggtaggggatagtcctattgggc  
aatctgagctgctgggagatgatgacgcttatctcggcaatcaaagatccaaggagtctcta  
30 ggtgaggccgggattcagaaaggctcagccatggctgccactactaccaccgccattttcac  
aaccctgaacgaacccaaaccagagacccaaaggaggggctgggccaagtccaggcagcgtc  
gccaaagtgtggaagaggcgggcggaagatgggcaggagagactccggtatctcttcacatttc

caaccttggcccaagcattcccttaaacacaggggtcaaaaagaggtccaccggaggaaagcaa  
ccaaaatgggtggagagggctcctaccgagaagcagagacctttaactcccaagtaggactgc  
ccatcttatacttctctgtgggagggcgggagcgggtgctgctgcgtccagaagtgtgtgctgag  
attccccgggaggcggttcacagtggaaagcctgggttaaaccggaggaggacagaacaaccc  
5 agccatcatcgaggtgtgtttgataactgtcccacactgtcagtgacaaaggctgggccc  
tggggatccgctcaggggaaggacaagggaagcgggatgctcgcttcttcttctccctctgc  
accgaccgcgtgaagaaagccaccatcttgattagccacagtcgctaccaaccaggcacatg  
gacctatgtggcagccacttacgatggacggcacatggccctgtatgtggatggcactcagg  
tggctagcagctctagaccagtctgggtcccctgaacagcccccttcatggcatcttgccgctct  
10 ttgctcctgggggggagacagctctgaggatgggcactatttccgtggacacctgggcacact  
ggttttctgggtcgaccgccctgccacaaagccattttcagcacagttctcagcattcaagtg  
aggaggaggaagcgactgacttggctcctgacagcgagctttgagcctgtgaacacagagtgg  
gttcccttttagagatgagaagtaccacgacttgaggttctccagggtttgagccagagcc  
tgagattctgtcgctttgcagccccactctgtgggcaaacagtcgtgacaatgtggaat  
15 tgatctcccagtacaatggatactggccccttcggggagagaaggtgatacgtaccagggtg  
gtgaacatctgtgatgatgagggcctaaacccccattgtgagtgaggagcagattcgtctgca  
gcacgaggcactgaatgaggccttcagccgctacaacatcagctggcagctgagcgtccacc  
aggtccacaattccaccctgcgacaccgggttggtgcttgtaactgtgagcccagcaagatt  
ggcaatgaccattgtgacccccagtggtgagcaccactcacaggctatgatgggggtgactg  
20 ccgctgcagggccgctgctactcctggaaccgcagggtgggctctgtcacgtggagtgtg  
acaacatgctgaacgactttgacgacgggagactgctgcgacccccagggtggctgatgtgcgc  
aagacctgctttgaccctgactcacccaagagggcatacatgagtgtgaaggagctgaagga  
ggccctgcagctgaacagtactcacttctcaacatctactttgccagctcagtgcggggaag  
accttgacaggtgctgccacctggccttgggacaaggacgctgtcactcacctgggtggcatt  
25 gtcctcagcccagcatattatgggatgcctggccacaccgacaccatgatccatgaagtggg  
acatgttctgggactctaccatgtctttaaaggagtcagtgaaagagaatcctgcaatgacc  
cctgcaaggagacagtgccatccatggaaacgggagacctctgtgccgacaccgccccact  
cccaagagtgagctgtgccgggaaccagagcccactagtacacctgtggottcactcgctt  
cccaggggtccggttcaccaactacatgagctacacggatgataactgactgacaacttca  
30 ctctaaccaagtggcccgaaatgcattgctatttggacctagtctatcagcagtgagctgaa  
agcagaaaagccccccccccattccacctatgggtcatcggaagaccaacaagtcctt  
cactatccactggctgcctcctattagtgaggttgatatgacagggcctcaggcagcttgt

gtggcgcttgactgaagatgggacctttcgtcagtatgtgcacacagcttcctcccggcgg  
gtgtgtgactcctcaggttattggaccccagaggaggtgtggggcctcctgatgtggatca  
gccctgcgagccaagcttacaggcctggagccctgaggtccacctgtaccacatgaacatga  
cgggtcccctgccccacagaaggctgtagcttgagagctgctcttccaacacccgggtccaagcc  
5 gacaccctcacctgtgggtcacttccttcttcatggagtcctcgcaggtcctctttgacac  
agagatcttgctggaaaacaaggagtcagtgacactgggccccttagacactttctgtgaca  
tcccactcaccatcaaactgcacgtggatgggaagggtgctcgggggtgaaagtctacaccttt  
gatgagaggatagagattgatgcagcactcctgacttctcagccccacagtccttctgtgctc  
tggctgcaggcctgtgaggtaccaggttctccgcgatccccatttgccagtggtttgcccg  
10 tgggtggtgacacattctcacaggaagttcacggacgtggaggtcacacctggacagatgtat  
cagtaccaagttctagctgaagctggaggagaactgggagaagcttcgcctcctctgaacca  
cattcatggagctccttattgtggagatgggaagggtgtcagagagactgggagaagagtgtg  
atgatggagaccttgtgagcggagatggctgctccaagggtgtgtgagctggaggaaggtttc  
aactgtgtaggagagccaagcctttgctacatgtatgaggagatggcatatgtgaaccttt  
15 tgagagaaaaaccagcattgtagactgtggcatctacactcccaaaggatacttggatcaat  
gggctacccgggcttactcctctcatgaagacaagaagaagtgtcctgtttccttggttaact  
ggagaacctcattccctaatttgcacatcataccatccagatttaccacaaccaccgtcccct  
aactggctggtttccctgtgttgccagtgaaaatgaaactcaggatgacaggagtgaacagc  
cagaaggtagcctgaagaaaggagatgaggtttggctcaaagtgtgtttcaatagaccagga  
20 gaggccagagcaattttttatttttttgacaactgatggcctagttcccggagagcatcagca  
gccgacagtgactctctacctgaccgatgtccgtggaagcaaccactctcttggaacctatg  
gactgtcatgccagcataatccactgattatcaatgtgacccatcaccagaatgtccttttc  
caccataccacctcagtgtgcccgaatttctcatccccacgggtcggcatctcagctgtggc  
tctaaggacatcctcccgcattgggtctttcggctcccagtaactgcatctcagaggacgagg  
25 ggcagaatcatcaggacagagctgtatccatcggccctgtgggaagcaggacagctgtccg  
tcattgctgcttgatcatgctgatgtggtgaactgtacctctataggcccaggtctcatgaa  
gtgtgctatcacttgtcaaaggggatttgcccttcaggccagcagtgggcagtacatcaggc  
ccatgcagaaggaaattctgctcacatgttcttctgggcactgggaccagaatgtgagctgc  
cttcccgtggactgcggtgttcccgaccctgtttgggtgaactatgcaaacttctcctgctc  
30 agagggaaccaaatttctgaaacgctgctcaatctcttgtgtcccaccagccaagctgcaag  
gactgagcccatggctgacatgtcttgaagatgggtctctggtctctccctgaagtctactgc  
aagttggagtgtgatgctccccctattattctgaatgccaaacttgctcctgcctcactgcct



ccaggacaaccacgacgtgggcaccatctgcaaatatgaatgcaaaccaggggtactatgtgg  
cagaaagtgcagagggtaaagtcaggaacaagctcctgaagatacaatgcctggaaggtgga  
atctgggagcaaggcagctgcattcctgtggtgtgtgagccacccctcctgtgtttgaagg  
catgtatgaatgtaccaatggcttcagcctggacagccagtgtgtgctcaactgtaaccagg  
5 aacgtgaaaagcttcccattcctctgcactaaagagggcctgtggacccaggagttaaagtgtg  
tgtgagaatctgcaaggagaatgccaccacccctcagagctgaattctgtggagtacaa  
atgtgaacaaggatatgggattggtgcagtgtgttccccattgtgtgtaatccccccagtg  
accccgatgctacctgagaatatcactgctgacactctggagcactggatggaacctgtc  
aaagtccagagcattgtgtgcactggccggcgtcaatggcacccagaccccgctcttagtcca  
10 ctgcatccagtcattgtgagcccttccaagcaaattggttggtgtgacactatcaacaaccgag  
cctactgccactatgacgggggagactgctgctcttccacactctcctccaagaaggtcatt  
ccatttgctgctgactgtgacctggatgagtgcacctgccgggaccccaaggcagaagaaaa  
tcagtaactgtgggaacaagccctccctccactgcctcagaggcagtaagaaagagaggcc  
gaccagaggagaaacaaaggggtgaatgaagaagaacaatcatgaaatggaagaaggaggaag  
15 agcatgaaggatcttataagaaatgcaagaggatattgatagggtgtgaactagttcatcaag  
tagcccaagtaggagagaatcataggcaaaagtttctttaagtggcagttgattaacatgg  
aaggggaaatatgatagatatataaggacctccacctgccggggcgccgctc

oder derem komplementären Strang,

20

(b) DNA-Sequenzen, die unter stringenten Bedingungen an Proteine kodierende Bereiche einer DNA-Sequenz nach (a) oder an Fragmente einer derartigen DNA-Sequenz hybridisieren,

25

(c) DNA-Sequenzen, die aufgrund einer Degeneration des genetischen Codes an DNA-Sequenzen nach (a) oder (b) hybridisieren,

30

(d) allelen Variationen und Mutationen, die sich durch Substitution, Insertion oder Deletion von einzelnen oder mehreren Nucleotiden oder Inversion von einzelnen oder mehreren Nucleotidteilsequenzen der DNA-Sequenzen nach (a) bis (c) er-

geben, wobei die Variationen und Mutanten isofunktionelle Expressionsprodukte kodieren.

Die Erfindung betrifft ferner eine Aminosäuresequenz, die eine Aminosäuresequenz umfaßt, welche ausgewählt ist unter

(a) der folgenden Aminosäuresequenz:

	-82	MAATTTTAIFTTLNEPKPETQR	-61
10	-60	RGWAKSRQRRQVWKRAEDGQGDSGISSHFQWPWKHSLKHRVKKSPPEESNQNGGEGSYR	-1
	1	EAETFNSQVGLPILYFSGRRERLLLRLPEVLAEIPREAFTVEAWVKPEGGQNNPAIIAGVF	60
	61	DNCSHTVSDKGWALGIRSGKDKGRDARFFFSLCTDRVKKATILISHSRYQPGTWTHVAA	120
	121	TYDGRHMALYVDGTQVASSLDQSGPLNSPFMASCRLSLLGGDSSEGDHYFRHGLGLVFW	180
	181	STALPQSHFQHSQSSEEEATDLVLTASFEPVNTIEWVPFRDEKYPRLVLQGFEPPEPE	240
15	241	ILSPLQPPPLCGQTVCDNVELISQYNGYWPLRGEKVIRYQVVNICDDEGLNPIVSEEQIRL	300
	301	QHEALNEAFSRYNISWQLSVHQVHNSTLRHRVVLVNCEPSKIGNDHCDPECEHPLTGYDG	360
	361	GDCRLQGRCYSWNRRDGLCHVECNMLNDFDDGDCDPOQVADVRKTCFDPDSPKRAYMSV	420
	421	KELKEALQLNSTHFLNIYFASSVREDLAGAATWPWDKDAVTHLGGIVLSPAYYGMPGHTD	480
	481	TMIHEVGHLGLYHVFVKGVSERESCNDPCKETVPSMETGDLCADTAPTPKSELCREPEPT	540
20	541	SDTCGFTRFPGAPFTNYMSYTDNCTDNFTPNQVARMHCYLDLVYQQWTESRKPTPTPIIP	600
	601	PMVIGQTNKSLTIHWLPPISGVVYDRASGSLCGACTEDGTFRQYVHTASSRRVCDSSGYW	660
	661	TPEEAVGPPDVDQPCPEPLQAWSPEVHLYHMNTVPCPTEGCSLELLFQHPVQADTLTLW	720
	721	VTSFFMESSQVLFDETEILLENKESVHLGPLDTFCDIPLTIKLVHDGKVSQVGVYTFDERI	780
	781	EIDAALLTSQPHSPLCSGCRPVRYQVLRDPPFASGLPVVVTHSHRKFTDVEVTPGQMYQY	840
25	841	QVLAEEAGGELGEASPLNHIHGAPYCGDGKVSERLGEEDDGDVLVSGDGCSKVCELEEGF	900
	901	NCVGEPSLCYMYEGDGICEPFERKTSIVDCGIYTPKGYLDQWATRAYSSHEDKKKCPVSL	960
	961	VTGEPHSLICTSYHPDLNHRPLTGWFPCVASENETQDDRSEQPEGSLKKEDEVWLKVCF	1020
	1021	NRPGEARAFIFLTTDGLVPGEHQPTVTLTLTDVIRGNSHSLGTYGLSCQHNPLIINVTH	1080
	1081	HQNVLFHHTTSVLPNFSSPRVGISAVALRTSSRIGLSAPSNCISEDEGQNHQGGQSCIHRP	1140
30	1141	CGKQDSCPSLLLDHADVVNCTSIGPGLMKCAITCQRGFALQASSGQYIRPMQKEILLTCS	1200
	1201	SGHWDQNVSCLPVDCGVPDPSLVNYANFSCSEGTGKFLKRCISICVPPAKLQGLSPWLTCL	1260
	1261	EDGLWSLPEVYCKLECDAPPIILNANLLLPHCLQDNHVDVTICKYECKPGYYVAESAEGK	1320
	1321	VRNKLKIQCLEGGIWEQGSCIPVVCPEPPPVFEGMYECTNGFSLDSQCVLNCNQEREKL	1380
	1381	PILCTKEGLWTQEFKLCENLQGECPPPPSELNSVEYKCEQGYGIGAVCSPLCVIPPSDPV	1440
35	1441	MLPENITADTLEHWMPEVKVQSIVCTGRRQWHPDPVLVHCIQSCEPFQANGWCDTINNRA	1500
	1501	YCHYDGGDCCSSTLSSKKVIPFAADCDLDECTCRDPKAEENQ	

(b) einer Aminosäuresequenz, bei der es sich um eine allele isofunktionelle Variante der in (a) definierten Aminosäuresequenz handelt,

(c) einer Mutante der in (a) oder (b) definierten Aminosäuresequenz, bei der ein oder mehrere Aminosäurerest(e) deletiert und/oder ersetzt und/oder insertiert und/oder eine

oder mehrere Aminosäureteilsequenz(en) invertiert ist/sind und welche isofunktionell ist,

(d) einer Aminosäuresequenz, an deren C-Terminus und/oder N-Terminus eine Aminosäuresequenz fusioniert ist, wobei das sich ergebende Fusionsprotein isofunktionell ist und/oder die zusätzlichen C-terminalen oder N-terminalen Aminosäuresequenzen leicht abgespalten werden können.

10 Ferner umfaßt die Erfindung polyklonale oder monoklonale Antikörper gegen die obigen Aminosäuresequenzen sowie die Verwendung der obigen DNA- und/oder Aminosäuresequenzen und/oder der obigen Antikörper in einem Assay zur humangenetischen Diagnostik, insbesondere zur Bestimmung von Trisomie 13, 18, 21  
15 oder 22, sowie die Verwendung der obigen DNA- und/oder Aminosäuresequenzen zum Auffinden von Antagonisten gegen PAPP-E.

Weitere vorteilhafte und/oder bevorzugte Ausführungsformen  
20 der Erfindung sind Gegenstand der Unteransprüche.

Im folgenden wird die Erfindung ohne Beschränkung anhand von Ausführungsbeispielen und unter Bezugnahme auf die Abbildungen detaillierter beschrieben.

25

Durch Genbankrecherche mit den BLAST-Programmen am NCBI [Altschul, 1997] wurde nach neuen cDNAs für Proteine mit Zinkbindungsmotiv gesucht. Dabei wurde ein zirka 300 bp großes *Expressed Sequence Tag* (EST) gefunden (gi 2020543).  
30 Dieses kodiert ein Proteinfragment mit dem vollständig konservierten Zinkbindungsmotiv der Metzinkine [Bode 1996] und

besitzt hohe Homologie zu dem *Pregnancy-associated Plasma Protein-A* (PAPP-A).

Die Klonierung dieses cDNA Fragmentes erfolgte durch RT-PCR [Sambrook, 1989]. Hierzu wurde RNA aus Plazentagewebe isoliert (RNeasy Total RNA System, Qiagen), revers transkribiert (Superscript II RNase H<sup>-</sup> Reverse Transcriptase, Life Technologies), mit den Primern

5'-tgaaggagctgaaggaggccctgc-3' und

5'-cgggtgtcggcacagaggtctcccg-3'

amplifiziert (Taq DNA Polymerase, Roche) und mittels TA-Cloning kloniert (TOPO TA Cloning Kit, Invitrogen). Anschließend 5'- und 3'-RACE-Experimente mit diesen genspezifischen Primern, Marathon-Ready-Placenta-cDNA (Clontech), dem Advantage-2-Polymerase-Mix (Clontech) und dem TOPO-XL-PCR Cloning-Kit (Invitrogen) führte zur Klonierung der vollständigen cDNA einschließlich flankierendem 5'- und 3'-Bereich [Abb. 1]. Die abgeleitete, 1542 Aminosäuren umfassende Sequenz des reifen Proteins wurde "PAPP-E" genannt, da sie im Vergleich zu PAPP-A eine 62 prozentige Homologie mit 44 Prozent identischen Aminosäuren, eine konservierte Anordnung der rund 80 Cysteinreste und eine konservierte Domänenstruktur besitzt [Abb. 2, Abb. 3]. Ferner wurde das PAPP-EGen durch Radiation-Hybrid-Mapping [Cox 1990] mit dem Gene-Bridge4-Panel (Research Genetics) und den Primern

5'-agcccagcatattatgggatgcctggcc-3' und

5'-ggtgtcggcacagaggtctcccggtttcc-3'

auf Chromosom 1 im Bereich der Bande q23-25 lokalisiert [Abb. 5].

Durch RNA-Array-Hybridisierung konnte gezeigt werden, daß PAPP-E sehr spezifisch in plazentalem Gewebe exprimiert wird

[Abb. 4]. Dieser Nachweis erfolgte durch Biotinylierung des klonierten PAPP-E-cDNA-Fragmentes (North2South Biotin Random Prime Kit, Pierce), Hybridisierung des MTE-Array-2 (Pierce) und Detektion mit dem North2South-Chemiluminescent-Hybridization-and-Detection-Kit (Pierce), CL-Xposure-X-ray Film (Pierce) und Eukobrom-Entwickler und Superfix-Fixierlösung (Tetena).

Zusammengefaßt offenbart bzw. umfaßt die Erfindung somit das humane Pregnancy-associated Plasma-Protein-E (PAPP-E), die zugehörige cDNA, DNA und RNA, sowie die chromosomale Lokalisierung auf dem Chromosom 1q23-25, die Darstellung des Proteins und abgeleiteter Peptide aus Zellkulturen durch Anwendung von Rekombinationstechniken sowie die Isolierung aus humanen Seren, den Einsatz der DNA und des Proteins sowie jeweiliger Fragmente sowie von Peptid- und Nucleinsäure-Antagonisten zu therapeutischen Zwecken, diagnostische Assays zum Nachweis des Proteins und der DNA, sowie natürlich vorkommende Mutationen.

Literaturverzeichnis:

- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J.,  
Zhang, Z., Miller, W., Lipman D. J. (1997). Gapped BLAST  
5 and PSI-BLAST: A new generation of protein database search  
programs, *Nucleic Acids Res.* 25, 3389-404.
- Angelloz-Nicoud, P., Harel, L., and Binoux, M. (1996). Recombinant human insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 stimulates prostate carcinoma cell proliferation via  
10 an IGF-dependent mechanism. Role of serine proteases.  
*Growth Regul* 6, 130-36.
- Bayes-Genis, A., Conover, A., and Schwartz, R. S. (1999). The  
insulin-like growth factor axis. *Circ Res* 86, 125-30.
- Bersinger, N. A., Brizot, M. L., Johnson, A., Snijders, R.  
15 J., Abbott, J., Schneider, H., and Nicolaides, K. H.  
(1994). First trimester maternal serum pregnancy-associated  
plasma protein A and pregnancy-specific beta 1-glycoprotein  
in fetal trisomies. *Br J Obstet Gynaecol* 101, 970-4.
- Biagiotti, R., Brizzi, L., Periti, E., d'Agata, A., Vanzi,  
20 E., and Cariati, E. (1998). First trimester screening for  
Down's syndrome using maternal serum PAPP- A and free beta-  
hCG in combination with fetal nuchal translucency thickness.  
*Br J Obstet Gynaecol* 105, 917-20.
- Bode, W., Grams, F., Reinemer, P., Gomis-Rüth, F. X., Bau-  
25 mann, U., McKay, D. B., and Stöcker, W. (1996). The metzincin-  
superfamily of zinc-peptidases. *Adv Exp Med Biol* 389,  
1-11.
- Bohn, H. (1971). Detection and characterization of pregnancy  
proteins in the human placenta and their quantitative immuno-  
30 chemical determination in sera from pregnant women. *Arch*  
*Gynakol* 210, 440-57.

- Bonno, M., Oxvig, C., Kephart, G. M., Wagner, J. M., Kristensen, T., Sottrup-Jensen, L., and Gleich, G. J. (1994). Localization of pregnancy-associated plasma protein-A and co-localization of pregnancy-associated plasma protein-A messenger ribonucleic acid and eosinophil granule major basic protein messenger ribonucleic acid in placenta. *Lab Invest* 71, 560-6.
- Bossi, M., Winterhalter, K. H., and Bersinger, N. A. (1993). Pregnancy-associated plasma protein B (PAPP-B): isolation from human late pregnancy serum and biochemical characterization. *Biochem Mol Biol Int* 29, 93-102.
- Butt, A. J., Firth, S. M., and Baxter, R. C. (1999). The IGF axis and programmed cell death. *Immunol Cell Biol* 77, 256-62.
- 15 Cox, D. R., Burmeister, M., Price, E. R., Kim, S., Myers, R. M. (1990). Radiation hybrid mapping: a somatic cell genetic method for constructing high-resolution maps of mammalian chromosomes. *Science* 250, 245-50.
- Cregg, J. M., Vedvick, T. S., and Raschke, W. C. (1993). Recent advances in the expression of foreign genes in *Pichia pastoris*. *Biotechnology (N Y)* 11, 905-10.
- 20 De Graaf, I. M., Pajkrt, E., Bilardo, C. M., Leschot, N. J., Cuckle, H. S., and van Lith, J. M. (1999). Early pregnancy screening for fetal aneuploidy with serum markers and nuchal translucency. *Prenat Diagn* 19, 458-62.
- Folkersen, J., Teisner, B., Grunnet, N., Grudzinskas, J. G., Westergaard, J. G., and Hindersson, P. (1981). Circulating levels of pregnancy zone protein: normal range and the influence of age and gender. *Clin Chim Acta* 110, 139-45.
- 30 Fowlkes, J. L., Enghild, J. J., Suzuki, K., and Nagase, H. (1994). Matrix metalloproteinases degrade insulin-like

growth factor-binding protein-3 in dermal fibroblast cultures. *J Biol Chem* 269, 25742-46.

Fowlkes, J. L., Thrailkill, K. M., George-Nascimento, C., Rosenberg, C. K., and Serra D. M. (1997). Heparin-binding, highly basic regions within the thyroglobulin type-I repeat of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) -3, -5, and -6 inhibit IGFBP degradation. *Endocrinology* 138, 2280-85.

Gall, S. A., and Halbert, S. P. (1972). Antigenic constituents in pregnancy plasma which are undetectable in normal non-pregnant female or male plasma. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 42, 503-15.

Klopper, A., Ahmed, A. G., Bersinger, N., and Urbaniak, S. (1985). Placental proteins in male serum. *Gynecol Obstet Invest* 20, 138-40.

Knight, C. G., Willenbrock, F., and Murphy, G. (1992). A novel coumarin-labelled peptide for sensitive continuous assays of the matrix metalloproteinases. *FEBS Lett* 296, 263-6.

Kristensen, T., D'Eustachio, P., Ogata, R. T., Chung, L. P., Reid, K. B., and Tack, B. F. (1987). The superfamily of C3b/C4b-binding proteins. *Fed Proc* 46, 2463-9.

Kristensen, T., Oxvig, C., Sand, O., Møller, N. P., and Sottrup-Jensen, L. (1994). Amino acid sequence of human pregnancy-associated plasma protein-A derived from cloned cDNA. *Biochemistry* 33, 1592-8.

Lawrence, J. B., Oxvig, C., Overgaard, M. T., Sottrup-Jensen, L., Gleich, G. J., Hays, L. G., Yates, J. R. r., and Conover, C. A. (1999). The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 3149-53.



- Lin, T. M., Galbert, S. P., Kiefer, D., Spellacy, W. N., and Gall, S. (1974). Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. *Am J Obstet Gynecol* 118, 223-36.
- 5 Oxvig, C., Sand, O., Kristensen, T., Gleich, G. J., and Sottrup-Jensen, L. (1993). Circulating human pregnancy-associated plasma protein-A is disulfide-bridged to the proform of eosinophil major basic protein. *J Biol Chem* 268, 12243-6.
- 10 Oxvig, C., Sand, O., Kristensen, T., Gleich, G. J., and Sottrup-Jensen, L. (1993). Circulating human pregnancy-associated plasma protein-A is disulfide-bridged to the proform of eosinophil major basic protein. *J Biol Chem* 268, 12243-6.
- 15 Pandya, P. P., Brizot, M. L., Kuhn, P., Snijders, R. J., and Nicolaides, K. H. (1994). First-trimester fetal nuchal translucency thickness and risk for trisomies. *Obstet Gynecol* 84, 420-3.
- Reid, K. B., and Day, A. J. (1989). Structure-function relationships of the complement components. *Immunol Today* 10, 177-80.
- 20 Ren, J., Samson, W. K., and Sowers, J. R. (1999). Insulin-like growth factor I as a cardiac hormone: physiological and pathological implications in heart disease. *J Mol Cardiol* 31, 2049-61.
- 25 Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989) *Molecular Cloning*, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Silahtaroglu, A. N., Tumer, Z., Kristensen, T., Sottrup-Jensen, L., and Tommerup, N. (1993). Assignment of the human gene for pregnancy-associated plasma protein A (PAPPA) to 9q33.1 by fluorescence in situ hybridization to mitotic and meiotic chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 62, 214-6.
- 30

- Sinosich, M. J., Porter, R., Sloss, P., Bonifacio, M. D., and Saunders, D. M. (1984). Pregnancy-associated plasma protein A in human ovarian follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 58, 500-4.
- 5 Sjöberg, J., Wahlström, T., Seppälä, M., Rutanen, E. M., Koistinen, R., Koskimies, A. I., Tenhunen, A., Sinosich, M. J., and Grudzinskas, J. G. (1984). Hyperstimulated human preovulatory follicular fluid, luteinized cells of unruptured follicles, and corpus luteum contain pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A). *Fertil Steril* 41, 10 551-7.
- Sjöberg, J., Wahlström, T., and Seppälä, M. (1984). Pregnancy-associated plasma protein A in the human endometrium is dependent on the effect of progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* 58, 15 359-62.
- Sjöberg, J., Wahlström, T., Grudzinskas, J. G., and Sinosich, M. J. (1986). Demonstration of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A)-like material in the fallopian tube. *Fertil Steril* 45, 517-21.
- 20 Stöcker, W., and Bode, W. (1995). Structural features of a superfamily of zinc-endopeptidases: the metzincins. *Curr Opin Struct Biol* 5, 383-90.
- Westergaard, J. G., Teisner, B., and Grudzinskas, J. G. (1983). Serum PAPP-A in normal pregnancy: relationship to fetal and maternal characteristics. *Arch Gynecol* 233, 211-25 5.
- Wheeler, D. M., Edirisinghe, W. R., Petchell, F., Yovich, J. L., Murch, A. R., Saunders, D. M., and Sinosich, M. J. (1996). Trophoblast antigen levels in the first trimester of a trisomy 22 pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 30 66, 197-9.

Yu, H., and Berkel, H. (1999). Insulin-like growth factors and cancer. J La State Med Soc 151, 218-23.

Zheng, B., Clarke, J. B., Busby, W. H., Duan, C., and Clemmons, D. R. (1998). Insulin-like growth factor binding protein-5 is cleaved by physiological concentrations of thrombin. Endocrinology 139, 1708-14.

Patentansprüche

1. DNA-Sequenz, die eine DNA-Sequenz umfaßt, welche ausgewählt ist unter

5

(a) der folgenden DNA-Sequenz:

tccgagggcgcccgggcaggtgttctgccaaactctgagctgggctggacacgcaagaaatcc  
ttggttgagaggggaacacctgaatcaggtgctgttggaaggagaacgttggtggctgggggc  
10 caaggttcgaagaccagagcttctccacagcatcacctctttggagtctaccccagcaggg  
ctgggaactacctaaggccctaccccgctgggggagcaagaaatccatcatacaggacgcagc  
aaaccagacactgaaggaaatgctgtgagccttggtccccagacctgactgaaaatccagc  
aggactgaggggtgcagttgaagagccggctgccccatgggtaggggatagtcctattgggc  
aatctgagctgctgggagatgatgacgcttatctcggcaatcaaagatccaaggagtctcta  
15 ggtgaggccgggattcagaaaggctcagccatgggtgccactactaccaccgccattttcac  
aacctgaacgaacccaaaccagagacccaaaggaggggctgggccaagtccaggcagcgtc  
gccaagtgtggaagaggcgggcggaagatgggcagggagactccggtatctcttcacatttc  
caaccttggccaagcattcccttaaacacaggggtcaaaaagagtccaccggaggaaagcaa  
ccaaaatggtggagagggtcctaccgagaagcagagacctttaactcccaagtaggactgc  
20 ccatcttatacttctctgggaggcgggagcggctgctgctgcgtccagaagtgtggctgag  
attccccgggaggcggttcacagtggaagcctgggttaaaccggaggaggacagaacaaccc  
agccatcatcgaggtgtgtttgataactgctccacactgtcagtgacaaaggctgggccc  
tggggatccgctcaggggaaggacaagggaagcgggatgctcgcttcttcttccctctgc  
accgaccgcgtgaagaaagccaccatcttgattagccacagtcgctaccaaccaggcacatg  
25 gaccatgtggcagccacttacgatggacggcacatggccctgtatgtggatggcactcagg  
tggctagcagtctagaccagtctgggtcccctgaacagccccttcatggcatcttgccgctct  
ttgctcctggggggagacagctctgaggatgggcactatttccgtggacacctgggcacact  
ggttttctgggtcgaccgccctgccacaaagccattttcagcacagttctcagcattcaagtg  
aggaggaggaagcgactgacttggtcctgacagcgagctttgagcctgtgaacacagagtgg  
30 gttcccttttagagatgagaagtaccacgacttgaggttctccagggtttgagccagagcc  
tgagattctgtgcctttgcagccccactctgtgggcaaacagtcctgtgacaatgtggaat  
tgatctcccagtacaatggatactggccccttcggggagagaagggtgatacgtaccagggtg

gtgaacatctgtgatgatgagggcctaaacccattgtgagtgaggagcagattcgtctgca  
gcacgaggcactgaatgagggccttcagccgctacaacatcagctggcagctgagcgtccacc  
aggtccacaattccaccctgcgacaccgggttggtgcttggtgaactgtgagcccagcaagatt  
ggcaatgaccattgtgaccccgagtgtgagcaccacctcacaggctatgatgggggtgactg  
5 ccgctgcagggccgctgctactcctggaaccgcagggatgggctctgtcacgtggagtgt  
acaacatgctgaacgactttgacgacggagactgctgcgacccccaggtggctgatgtgcgc  
aagacctgctttgaccctgactcacccaagagggcatacatgagtgtgaaggagctgaagga  
ggcctgcagctgaacagtactcacttcctcaacatctactttgccagctcagtgcgggaag  
accttgagggtgctgccacctggccttgggacaaggacgctgtcactcacctgggtggcatt  
10 gtcctcagcccagcatattatgggatgcctggccacaccgacacccatgatccatgaagtggg  
acatgttctgggactctacccatgtctttaaggagtcagtgaagagaatcctgcaatgacc  
cctgcaaggagacagtgccatccatggaaacgggagacctctgtgccgacaccgccccact  
ccaagagtgcagctgtgccgggaaccagagcccactagtgacacctgtggcttcactcgctt  
cccaggggctccgttcaccaactacatgagctacacggatgataactgcactgacaacttca  
15 ctctaaccaagtggccccgaatgcattgctatattggacctagtctatcagcagtggaactgaa  
agcagaaagccccacccccacccccattccacctatgggtcatcggacagaccaacaagtcctt  
cactatccactggctgcctcctattagtgaggattgtatatgacagggcctcaggcagcttgt  
gtggcgcttgactgaagatgggaccttcgtcagtatgtgcacacagcttcctcccggcgg  
gtgtgtgactcctcaggttattggaccccagaggaggctgtggggcctcctgatgtggatca  
20 gccctgcgagccaagcttacaggcctggagccctgaggtccacctgtaccacatgaacatga  
cggctcccctgccccacagaaggctgtagcttggagctgctcttccaacaccgggtccaagcc  
gacacctcacctgtgggtcacttccttcttcatggagtcctcgcaggtcctctttgacac  
agagatcttgctggaaaacaaggagtcagtgcacctggggcccttagacactttctgtgaca  
tcccactcaccatcaaactgcacgtggatgggaagggtgtcgggggtgaaagtctacaccttt  
25 gatgagaggatagagattgatgcagcactcctgacttctcagccccacagtccttctgtgctc  
tggtgcaggcctgtgaggtaccaggttctccgcgatccccatttgccagtggtttgcccg  
tggtggtgacacattctcacaggaagttcacggacgtggaggtcacacctggacagatgtat  
cagtaccaagttctagctgaagctggaggagaactgggagaagcttcgcctcctctgaacca  
cattcatggagctccttattgtggagatgggaagggtgtcagagagactgggagaagagtgtg  
30 atgatggagaccttgtagcgagatggctgctccaagggtgtgtgagctggaggaagggtttc  
aactgtgtaggagagccaagcctttgctacatgtatgaggagatggcatatgtgaaccttt  
tgagagaaaaaccagcattgtagactgtggcatctacactcccaaaggatacttggatcaat

gggctacccgggcttactcctctcatgaagacaagaagaagtgtcctgtttccttggttaact  
ggagaacctcattccctaatttgcacatcataccatccagatttacccaaccaccgtcccct  
aactggctgggtttccctgtgttgccagtgaaaatgaaactcaggatgacaggagtgaacagc  
cagaaggtagcctgaagaaagaggatgaggtttggctcaaagtgtgtttcaatagaccagga  
5 gaggccagagcaatttttttttttgacaactgatggcctagttcccggagagcatcagca  
gccgacagtgactctctacctgaccgatgtccgtggaagcaaccactctcttggaacctatg  
gactgtcatgccagcataatccactgattatcaatgtgacctatcaccagaatgtccttttc  
caccataccacctcagtgtgcccgaattttctcatccccacgggtcggcatctcagctgtggc  
tctaaggacatcctcccgcatgtgtctttcggtcccagtaactgcatctcagaggacgagg  
10 ggcagaatcatcagggaacagagctgtatccatcggccctgtgggaagcaggacagctgtccg  
tcattgctgcttgatcatgctgatgtggtgaactgtacctctataggcccagggtctcatgaa  
gtgtgctatcacttgtcaaaggggatttgccttcaggccagcagtgggcagtacatcaggc  
ccatgcagaaggaaattctgctcacatgttcttctgggactgggaccagaatgtgagctgc  
cttcccgtggactgcgggtgttcccgacctgtcttgggtgaactatgcaaacttctcctgctc  
15 agagggaaaccaaatttctgaaacgctgctcaatctcttgtgtcccaccagccaagctgcaag  
gactgagcccatggctgacatgtcttgaagatgggtctctggtctctccctgaagtctactgc  
aagttggagtgtgatgctccccctattattctgaatgccaacttgctcctgcctcactgcct  
ccaggacaaccacgacgtgggcaccatctgcaaataatgaatgcaaaccagggtactatgtgg  
cagaaagtgcagagggtaaaagtgcaggaacaagctcctgaagatacaatgcctggaagggtgga  
20 atctgggagcaaggcagctgcattcctgtggtgtgtgagccacccccctcctgtgtttgaagg  
catgtatgaatgtaccaatggcttcagcctggacagccagtgtgtgctcaactgtaaccagg  
aacgtgaaaagcttcccatcctctgcaactaaagagggcctgtggaccaggagtttaagttg  
tgtgagaatctgcaaggagaatgccaccacccccctcagagctgaattctgtggagtacaa  
atgtgaacaaggatatgggattggtgcagtgtgttccccattgtgtgtaatccccccagtg  
25 accccgtgatgctacctgagaatatcactgctgacactctggagcactggatggaacctgtc  
aaagtcagagcattgtgtgcactggccggcgtcaatggcaccacagaccccgctcttagtcca  
ctgcatccagtcatgtgagcccttccaagcaaatagttgggtgtgacactatcaacaaccgag  
cctactgccactatgacgggggagactgctgctcttcacactctcctccaagaagggtcatt  
ccatttgctgctgactgtgacctggatgagtgcacctgccgggaccccaaggcagaagaaaa  
30 tcagtaactgtgggaacaagcccctccctccactgcctcagaggcagtaagaaagagaggcc  
gaccaggaggaaacaaagggtgaatgaagaagaacaatcatgaaatggaagaaggaggaag  
agcatgaaggatcttataagaaatgcaagaggatattgatagggtgtgaactagttcatcaag

tagcccaagtaggagagaatcataggcaaaagtttctttaagtggcagttgattaacatgg  
aaggggaaatatgatagatatataaggaccctccacctgcccggggcgccgctc

oder derem komplementären Strang,

5

(b) DNA-Sequenzen, die unter stringenten Bedingungen an Proteine kodierende Bereiche einer DNA-Sequenz nach (a) oder an Fragmente einer derartigen DNA-Sequenz hybridisieren,

10 (c) DNA-Sequenzen, die aufgrund einer Degeneration des genetischen Codes an DNA-Sequenzen nach (a) oder (b) hybridisieren,

(d) allelen Variationen und Mutationen, die sich durch Substitution, Insertion oder Deletion von einzelnen oder mehreren Nucleotiden oder Inversion von einzelnen oder mehreren Nucleotidteilsequenzen der DNA-Sequenzen nach (a) bis (c) ergeben, wobei die Variationen und Mutanten isofunktionelle Expressionsprodukte kodieren.

20

2. Rekombinierter Expressionsvektor, der eine DNA-Sequenz nach Anspruch 1 enthält.

3. Prokaryotische oder eukaryotische Zelle, die mit einer DNA-Sequenz nach Anspruch 1 oder einem rekombinierten Expressionsvektor nach Anspruch 2 transformiert oder transfiziert ist.

4. Expressions- oder Teilexpressionsprodukt einer DNA-Sequenz nach Anspruch 1 oder eines rekombinierten Expressionsvektors nach Anspruch 2.

30

5. Verfahren zur Herstellung eines Expressions- oder Teilexpressionsproduktes nach Anspruch 4, bei dem eine Zelle nach Anspruch 3 in einem geeigneten Kulturmedium kultiviert und das Expressions- oder Teilexpressionsprodukt aus den Zellen und/oder dem Kulturmedium isoliert wird.

6. Aminosäuresequenz, die eine Aminosäuresequenz umfaßt, welche ausgewählt ist unter

(a) der folgenden Aminosäuresequenz:

	-82		MAATTTTAIFTTLNEPKPETQR	-61
	-60	RGWAKSRQRRQVWKRAEDGQGDSGISSHFQWPWKHSLKHRVKKSPPEESNQNGGEGSYR		-1
	1	EAETFNSQVGLPILYFSGRRERLLLRLPEVLAEIPREAFTEAWVKPEGGQNNPAAIAGVF		60
15	61	DNCSTVSDKGWALGIRSGKDKGKRDAFFFSLCTDRVKKATILISHSRYQPGTWTHTVAA		120
	121	TYDGRHMALYVDGTQVASSLDQSGPLNSPFMASCRLLLGGDSSDGHYFRGHLGTLVFW		180
	181	STALPQSHFQHSQSSEEEATDLVLTASFEPVTEWVPFRDEKYPRLVLQGFEPPE		240
	241	ILSPLOPPLCGQTVCDNVELISQYNGYWPLRGEKVIRYQVVICDDEGLNPVSEEQIRL		300
	301	QHEALNEAFSRYNISWQLSVHQVHNSTLRHRVVLVNCEPSKIGNDHCDPECEHPLTGYDG		360
20	361	GDCRLQGRCYSWNRRDGLCHVECNMNLNDFDDGDCDPQVADVRKTCFDPDSPKRAYMSV		420
	421	KELKEALQLNSTHFLNIYFASSVREDLAGAATWPWDKDAVTHLGGIVLSPAYYGMPTGHTD		480
	481	TMIHEVGHVGLGLYHVFKGVSERESCNDPCKETVPSMETGDLCADTAPTPKSELCREPEPT		540
	541	SDTCGFTRFPGAPFTNYMSYTDNCTDNFTPNQVARMHCYLDLVYQQWTESRKPTPTPIP		600
	601	PMVIGPQTNKSLTIHWLPPISGVVYDRASGSLCGACTEDGTFRQYVHTASSRRVCDSSGYW		660
25	661	TPEEAVGPPDQVDPCEPSLQAWSPEVHLYHMNMTPVPCPTGCSLELLFQHPVQADTLTLW		720
	721	VTSFFMESSQVLFDEILLENKESVHLGPLDTFCDIPLTIKLHVDGKVSQVGYTFDERI		780
	781	EIDAALLTSQPHSPLCSGCRPVRYQVLRDPPFASGLPVVVTSHRKFTDVEVTPGQMYQY		840
	841	QVLAEEAGGELGEASPLPLNHIHGAPYCGDGKVSERLGEEDDGDVLVSGDGCSKVCELEEGF		900
	901	NCVGEPSLCMYEGDGICEPFERKTSIVDCGIYTPKGYLDQWATRAYSSHEDKKKCPVSL		960
30	961	VTGEPHSLICTSYHPDLPNHRPLTGWFPCVASENETQDDRSEQPEGSLKKEDEVWLKVCF		1020
	1021	NRPGEARAIFIFLTDDGLVPGEHQPTVTLYLTDVRGSNHSGLTYGLSCQHNPLIINVTH		1080
	1081	HQNVLFHHTTSVLPNFSSPRVGISAVALTSSRIGLSAPSNCISEDEGQNHQGQSCIHRP		1140
	1141	CGKQDSCPSLLLDHADVVNCTSIGPGLMKCAITCQRFALQASSGQYIRPMQKEILLTCS		1200
	1201	SGHWDQNVSCLPVDCGVPDPSLVNYANFSCSEGTFKFLKRCISCVPPAKLQGLSPWLTCL		1260
35	1261	EDGLWSLPEVYCKLECDAPPIILNANLLLPHCLQDNHDVGTICKYECKPGYYVAESAEGK		1320
	1321	VRNKLKLIQCLEGGIWEQGSQIPVCEPPPPVFEGMYECTNGFSLDSQCVLNCNQEREKL		1380
	1381	PILCTKEGLWTQEFKLCENLQGECPPPPSELNSVEYKCEQGYGIGAVCSPLCVIPPSDPV		1440
	1441	MLPENITADTLEHWMPEVKVQSIQVCTGRRQWHPDVLVHCIQSCEPFQANGWCDTINNRA		1500
40	1501	YCHYDGGDCSSTLSSKKVIPFAADCCLDECTCRDPKAEENQ		

(b) einer Aminosäuresequenz, bei der es sich um eine allele isofunktionelle Variante der in (a) definierten Aminosäuresequenz handelt,



(c) einer Mutante der in (a) oder (b) definierten Aminosäuresequenz, bei der ein oder mehrere Aminosäurerest(e) deletiert und/oder ersetzt und/oder insertiert und/oder eine oder mehrere Aminosäureteilsequenz(en) invertiert ist/sind  
5 und welche isofunktionell ist,

(d) einer Aminosäuresequenz, an deren C-Terminus und/oder N-Terminus eine Aminosäuresequenz fusioniert ist, wobei das sich ergebende Fusionsprotein isofunktionell ist und/oder die  
10 zusätzlichen C-terminalen oder N-terminalen Aminosäuresequenzen leicht abgespalten werden können.

7. Polyklonaler oder monoklonaler Antikörper, der gegen ein Expressionsprodukt oder eine Aminosäuresequenz nach einem der  
15 vorherigen Ansprüche gerichtet ist.

8. Verwendung einer DNA-Sequenz oder eines Expressionsproduktes oder einer Aminosäuresequenz oder eines Antikörpers nach einem der vorherigen Ansprüche in einem Assay zur human-  
20 genetischen Diagnostik.

9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei der Assay zum Nachweis von Trisomie 13, 18, 21 oder 22 dient.

25 10. Kit zur Verwendung in einem Assay zur humangenetischen Diagnostik, der eine DNA-Sequenz oder ein Expressionsprodukt oder eine Aminosäuresequenz oder einen Antikörper nach einem der vorherigen Ansprüche enthält.

11. Kit nach Anspruch 10, wobei der Assay zum Nachweis von Trisomie 13, 18, 21 oder 22 dient.

- 5 12. Verwendung einer DNA-Sequenz oder eines Expressionsproduktes oder einer Aminosäuresequenz nach einem der vorherigen Ansprüche in einem Assay zum Auffinden von Antagonisten gegen PAPP-E.
-



2831 gtaactggagaacctcattccctaatttgcacatcataccatccagatttaaccacaacccgtcccttaactggtgtgtttccctgtgttgcagtgaaaatgaactcaggatgacagg 3030  
961 V T G E P H S L I C T S Y H P D L P N H R P L T G W F P C V A S E N E T Q D D R 1050  
3001 agtgaacagccagaaggttagcctgaagaaaggatgagggttggctcaaagtggtttcaatagaccaggagaggccagagcaatttttattttttgacaactgatggcctagtccccc 3120  
1091 S E Q P E G S L K K E D E V W L K V C F N R P G E A R A I F I F L T T D G L V P 1040  
3121 ggagagacacagagagcagtgactctctacctgacagatgtccgggaagcaaacactctcttggaaacctatggactgtcatgccagcctaataccactgattatcaatgtgacccat 3240  
1041 G E H Q Q P T V T L Y L T D V R G S N H S L G T Y C L S C Q H N P L I I N V T H 1080  
3241 caccagaatgtctttttccaccatcacccctcagtgctgccgaattttctatccccacgggtcggcatctcagctgtggctcttaaggacatctcccccattgggtctttcgggtccaggt 3360  
1081 H Q N V L F H H T T S V L P N F S S P R V G I S A V A L R T S S R I G L S A P S 1120  
3361 aactgcatctcagagacaggggcaaatcatcagggaacagagctgtatccatcgccctgtgggaagcaggacagctgtccgtcattgctgcttgatcatgctgtgtgtgtgaactgt 3480  
1121 N C I S E D E C Q N H Q G Q S C I H R P C G K Q D S C P S L L L D H A D V V N C 1160  
3481 atctctataggccaggtctcatgaagtgtgctcatcacttgcataagggttattgcccttcaggccagcagtggtgagtagacatcaggcccatgcagaaggaaattctgctcacatgtctct 3600  
1161 T S I G P G L N K C A I T C Q R G F A L Q A S S G V A L R T S S R I G L S A P S 1200  
3601 tctgggactgggaccagaatgtgagctgcttcccgaggacgtgggtgttcccgaccctgttgggtgaactatgcaaacctctcctgctcagaggggaaccaattctgaaacgtgtgc 3720  
1201 S G H W D Q N V S C L P V D C G V P D P S L V N Y A N F S C S E G T K F L K R C 1240  
3721 tcaatctctctggtcccccaccagccaagctgaaggactgagcccatggctgacatgcttgaagatgggtctctcctcctgaagctctactgcaagtggtgagtgctgctccccc 3840  
1241 S I S C V P P A K L Q G L S F N L T C L E D G L W S L P E V Y C K L E C D A P P 1280  
3841 attattctgaaagcaacttgctcctcctcactgctccaggacaaccacgacgtgggcaaccatctgcaaatatgaatgcaaacagggtactatgtggcagaagtgacagaggggtaaa 3960  
1281 I I L N A N L L L P H C L Q D N H D V G T I C K Y E C K P G Y Y V A E S A E G K 1320  
3961 gtcgggaacaaggtctcgaagatacaatgctcgggaaggtggaatctgggagcaaggcagctgcattctctgtgtgtgtgagccacccctcctgtgttgaaggcatgtatgaatgacc 4080  
1321 V R N K L L K I Q C L E G G I W E Q G S C I P V V C E P P P P V F E G M Y E C T 1360  
4081 aatggcttcagcttgagcagcagtgctgtcctcaactgtaacccaggaacgtgaaaagcttcccatctctcgcactaaagagggcctgtggaccaggagcttgaagtgtgtgagaatctg 4200  
1361 N G F S L D S Q C V L N C N Q E R E K L P I L C T K E G L W T Q E F K L C E N L 1400  
4201 caaggagaatgcccaccacccccctcagagctgaattctgtgagtagacaattgtgaacaaggataggggatgggtgagctgtgtccccattgtgtgaatccccccagtgacccctg 4320  
1401 Q G E C P P P P S E L N S V E Y K C E Q G Y G I G A V C S P L C V I F P S D P V 1440  
4321 atgctacctgagaatatactgctgacactctggagcactggatggaacctgtcaaaagtcagagcattgtgtgactggcggcgctcaatgggacccagagaccctcttagtccactgc 4440  
1441 M L P E N I T A D T L E H W M E P V K V Q S I V C T G R R Q W H P D P V L V H C 1480  
4441 atccagtcagtgagcccttccaagcaaatgggtgggtgtgacactatcaacaacaggagcctactgacactatgacgggggagactgtgtctctccacactctcctccaagaaggctcatt 4560  
1481 I O S C E P P Q A N G W C D T I N N R A Y C H Y D G G D C C S T L S S K K V I 1520  
4561 ccatttgctgtgactgtgacctggatgagtgacactgcccgggaccccaaggcagaagaaaatcagtaactgtgggaacaagccctccctccactgctcagaggcagtaagaagaga 4680  
1521 P F A A D C D L D E C T C R D P K A E E N Q Stop  
4681 ggccgacccagggggaacccaagggtggaatgaagaagaacaatcatgaatggaagaaggaggaagagcatgaagggtcttataagaatgcaaggagatattgataggtgtgaactagt 4800  
4801 tcatcaagtgcaccaagtaggagagaatcataggcaaaagtctctttaaagtgagctgtgattaaacatggaagggaatatgatagatatataaggacccctccactgcccggggcgcc 4920  
4921 gctc

Abb. 1: cDNA und abgeleitete Proteinsequenz des humanen PAPP-E.  
Das potentielle Präpropeptid ist kursiv, Start- und Stoppcodon sind fett gedruckt.

E: 1	EATFNSQVGLP--LYFSGRRLRLRPEVLAEIPREAFTEAVKPEGGQNNPAIAGVFDNCSHTVSDKQWALGIRSGKDKGRDARFFSLCTDRVKATILISHRYCPGTWTHV EA P LYFSGR E-L L E-PR-AFT--W-- EGGQ -PA-I G--D CS- D-GW +GI + D- +D R-FFSL TDR --T + -H Y PG W --
A: 1	EARGATEEPSPPSRALYFSGRGEJLRVLRADE-ELPRDAFTLQVWLRAGGORSAPVITGLYDKCSYISRDGRWTVGINTISQCDNKDPYVFLSKTDRARQVTTINAHRSYLPQDPTVL
E: 119	AATYDGRHMAIYVDTQVASSLDQSGPLNSPFMASCRSLLLCGDSSDGHVFRGHLOTLVFNSTALPQSHFQHSQSSHEEATDLVLTASPEPVNTEWVFRDEKYPALV--LIGFE AATYDG- M LYV-J QVA-S +Q G + SP C- L-LGG + H -RG++ W A Q L-L + + + V W P -D P--E GF
A: 120	AATYDQGFHMLYVNGAQVATSQGVGIFSLPTOKCKVLMGGGSAI--HNYRGYIEHFSLMKVARTQREILSDMETHGAHTALPOLLQEIHWVYKHAWSPMKGGSSPKVEFSNAGFL
E: 237	PEPEILSPLOPPLCQJTVCONVELISQYNGYVPLRGEKVIRYQVWVHCDEGLNPVISEQIRLQHEALNEAFSRYNISWQLSVHQVHNSTLHRVTVLVKCEPSKIGNDCPECEHPT + L-PPLCQJTV-CON E-I+ YN R KV-RY-VVN- +D- NP V- EQ- CH L EAF +YNISW-L V -V NS-LR R--L NC- SKIG--CDPEC H LT
A: 238	LD----TSLEPPLCQJTVCONTEVIASYNQLSSFRQPKVRYRVMYLYEDGCHKVTVTRESQVDFQHHQLEAFKQYNTISWELDVLEVNSSSLRRRLILANCDISKIGDNCPECEHPT
E: 357	GVDGDCR-LQGRCSYNNRDLGLHVECHRMINDPDDGDCDPOVADVKTCTFDPDSKPRAMYVKELKEALQLNSTHFLNIYFASSVREDLAGAATWPKWCAVTHLGGIVLSFAYYDM G-DGDCR L+ - + +G-C ++CN +FD G-CQDP-- -V -TCFDRDSP RAY- V ELK L-L- + LNI-FA S E-LAG ATWPKWCA- HLGIVL-P--YDM
A: 354	GVDGDCRHLRHRPFRVKKHNGYVCDGCGNYERHFDGGECCDPEITNTVQTCFDPDSFHRAYLDVYELKNILKLDGSTHNIFFAKSSSEELAGVATWPKWCAVTHLGGIVLSFAYYDM
E: 476	PGHTDTNIEHVGKVLGLYHVFQGVSERESCNDPCKETVPSMETGDLCACTAFTPKSELCREPEPTSDTCGTRFPGAPFTNYMSYTDNCTCTFTRQVAPVHXYCLDLVYQCTEERHPT PGHT TNINS+GH LGYHVF-G-SE +SC-DPC ET PS ETGDLCT P PK + C + P +DTCGF F P +N-MSY DD-CTD-FTPHQVAPVHXYCLDLVYQ W SRAP
A: 474	PGHTNTNIEHIGKSLGLYHVFGRGISEIQSCSDPCMETEPTSETGDLCTDNTNAPKHKSCDGPQNDTCGPHSFHTFYNNFMSYADDDCTCTFTRQVAPVHXYCLDLVYQCTEERHPT
E: 596	PTPIPNVICQTNKSLTIHKLWVYVDRASGSLCGACTEDGTFRQVYHTASSRRVCDSSGYNTPEEAVGPPDQVQPCPSLQANSPEVHLYHNTVPCP-TEGCSLELLFQHNPTA P + P-V+G T S-T- W PPI G ++R GS C C E QY ASS C SG-W-P EA G PDV-OPC- S--WSP + + CP +GC LEL F -P-
A: 594	PVALAPQVGLHGTCTSVLEWFPPIIDGHFFERELGSACHLCLEGRILVQYASNASSPMPSCPSGHWSPREAECHPDVEQPCSKSVRTPNSHSAVNPHTVPPACPEPQGCYLEFLYPLVP
E: 715	DTLTLMVT--SFFMSSQVLFOTEILLENKESVHLGPLDTFCDIPLTIKL-HVDGKVSQVKVYTFDERIEIDAALLTSQPHSLCSCGRPVRYQLRDPFFASGLPVVTHSHAKTFDVE -LT-LMT S -SS + D ++L + + + LGP + FCD-PLTI-L V +V G--YT DE +EIDAA-LTS +PLC C-P--Y-V-RDPP + + + H -REF D--
A: 714	ESLTIWTFVSTWSSGAVNDIKLLAVSGKNISLGPQNVFCVPLTIRLMDVGEVEYVIGIYTLDEHLEIDAAMLTSTADTPLCLQCKPLKYV/ADPPLCMQVASIL-HLNRFFVDM
E: 832	VTPQMYQYQVLAZAGGLEASFPINNINGAPYCGDGKVSERLGECDGGLVGGDCGKVCLEEGFNCVGEPSLCMYEODGICEPFRKTSIVDCQIYTPKGYLDQWATRAYSSHE + G +YQY V+ -G E E SP + +ING YCGDG + + GE+CDG + +GGGCS C E FNC+ EPS CY ++GDG+CE PE-KTISI DCG-YTP+G-LDQW- A' SH-
A: 833	LNLGSVTYQVWVIT:SGTSESPSPAVTYIHGRGYCGDGIQNDQDQCGDDMKXINGDGCSLFCRQVSVFNCIDEPSRCYFHDGQVGECEFEQNTSIXDGVYTPQGGFLDQWASNAVSHE
E: 952	DKKXCPVSLVTGP-HSLICTSYHPLDPLNRPLTGWPCVASNETQDDRSQPEGLKKEDEVMLKVCNRPGEARAFIFLTDTGLVPGHQQTIVLYLTDRVGSNHSLOTYGLSCQ D +CP ++G-P S +C + DL W-PC S +Q + WL+ F++P A A+ + L TDG G- +Q T++ L D + -H LG -LSD-
A: 953	D-QCCPGWVIGQPAASQVCRKVIDLSEGISQWANYPCITISYPYSQ-----LAQTTFNLRAYFSQPMYAAAVIVHLVTDGTYGQDQKQETISVOLLDTCQSHDLSHVLSCR
E: 1071	HNPLIINVTHQNVLFPHHTISVLPNFSSPRVGISAVALTSSRIGLSAPSNCISEDEGQNHQGCICHRPCGKQDSQPSLLDHDADVNVNCTISGP-GLNKCAITCQGFALCAGSGVIR -NPLII V H + F-H- -V +FSSP V IS VALR+ S-C E + QSC-H C K D CP L + + + A +NC+S +C ++C G+ LQ +
A: 1061	NNPLIIPVVDLSQPFYHSQAVRVSSPPLVAISGVALRSDFHDFPVLSSC-QRGETYSPAQZQSCVHFACETD-CPELAVENAS-LNCSSSDRYHGACCTVSCRTGYTLOTRDELII
E: 1190	PMQ--KEILLTCSGSHNDQHVSCLPVDCGVDPDSLVNYANFSCSEGTKFLKRCISCVPPAKLQGLSPWLTCLDGLWSLPEVYKLECDAPFTILNANLLPHCLQDNHDTICHTEC Q + +TC- G W + + V+C PVDC +PD V A-FSC EGT F +CS C PA-L+G + LTC+EDGLWS PE C-L C APP + HA-L C + + H VG- CXY-C
A: 1178	KSGTGPVTVCTGCKNKQVACEPVDCSIIPDHNOVXAASFCPEGTFGSGQSPQCRHQAQLKGNNSLITCMERGLWSFREALCELMCLAPPEVFNADTARCRNKHGCVSSPKYVC
E: 1308	KPQYVAESAEGKVRNKLKIQCLEGGIWSQGSQIPVVEPFPFVTEGMYECTNGFSLDSQCVLNC-----NQEREKLPILTREGLWTRQFKLZENLQCEPFPFPFELNS-VEYVCEG KPOY+V S+ K + + K QC + G W++G+C+PV C+PFP F G+Y+CTNGF +S+C + C +Q I C K+G W F +C- +QC-C P-ELNS -- +C G
A: 1298	KPGYHVPSSR-KSKRAFKTCTCTDGGSHQEGACVPVTEPPPPKPHGLVCTNGFQFHSSECRKCEDSDASQGLGSNTYIHCCKDGTWNGSFYVQEMQGC-SVPNELNSNLKCCPEG
E: 1422	YGIGAVCSPLCVIPPSDPVHLPENITADTLERHMEPVKQSVCTGRQRWNPDPVLVHCQSCFPOANGHCDTINNRAHYDGGDCCSSTLSSKKVIFPAADCDLD-ECTTRPAAEE Y IG+ C+ C+ S+ ++LP N+T + HW+ P +V+ +VCT +W+P D L+HC--CEPP + +CD INNRA+C+YDGGDCC-ST- -KKV PF CDL +C CRFP-A-E
A: 1416	YALGSECATSCLDRESISILPWNVTVEDLPWLNPTRVRYCTAGLKNYHFPALIHCVKCEPFGNDVYCAINNRAFCNYDGGDCTSTVTKKVTVPFMSCDLGGCACRFPAAE
PAPP-E:	1541 H
PAPP-A:	1536 H

Abb. 2: Vergleich der PAPP-E und PAPP-A Sequenzen und Motive.

LNR: Lin-notch repeat; SCR: short consensus repeat; Zn<sup>2+</sup>: Zink-Bindungsstelle; □: N-Glykosylierungsstelle; ◇: Anknüpfungsstelle für Glykosaminoglykane.

Short consensus repeats (SCRs):

```

SCR-1 (PAPP-A) C--PELAVENAS-LN-CSSSDRYHGAQCTVSCRTGYVLQIRRDDELIXSQTGPSVTVT-----CT-ECK-WNKQVA---C
SCR-1 (PAPP-E) C--PSLLLDHADVNN-CTSIGP-GLMKCAITCQRGFALQASSGQYIRPMQ--KEILLT-----CSS-GH-WDQNVN---C
SCR-2 (PAPP-A) CSIPDHQVYAAFS-CPEGIT-FLGQCSFQCRHPAQLKGNNSLLT-----CMEDGL-WSFPEAL---C
SCR-2 (PAPP-E) CGVPDPSLVNYANFS-CSEGIT-FLKRCISICVPAKLQGLSPWLT-----CLEDDL-WSLPEVY---C
SCR-3 (PAPP-A) CLAPPPVPNADLQTARCRENKHKVGSCFYCKYCKPGYHVPSSR-KSKKRAFKTQ-----CTQDGS-W-DEGA---C
SCR-3 (PAPP-E) CDAPPIILNANLLLPHCLQDNHVDGTICKYECKPGYHVAESAEGKVRNKLKIQ-----CLEGGI-WEQGS---C
SCR-4 (PAPP-A) CDPPPPKPHG-LYQ--CTNGFQFN-SECRICKEDSDASQGLGSNVH-----CRKDTG-WNGSFHV---C
SCR-4 (PAPP-E) CEPPPPVFEG-MYE--CTNGFSLD-SQCVLNC-----NQEREKLPIL-----CTKEGL-WTOEFKL---C
SCR-5 (PAPP-A) CSVP-NELNSNLKLO-CPDGYAI-GSECATSCLOHNSSEIILPMNVTVRDIPHNLNPTRVVVCTA-GLKWPYHFAIHC
SCR-5 (PAPP-E) CPPPPSELNS-VEYK-CDQGYGI-GAVCSPLCVIPSPDFVMLPENITADTLEHWMPEPVKQSVICTGARQ-WHPDPVLVHC
PAPP-A SCRs C--P-----C-----GS-C---C-----C--DE-W---A---C

```

Lip-notch repeats (LNRs):

```

LNR-1 (PAPP-A) CDISKIGDEN-----CDPE-----CNHILTSHDGGD-
LNR-1 (PAPP-E) CEPSKIGNDH-----CDPE-----CEHPLTGYDGGD-
LNR-2 (PAPP-A) CRHLRHPAFVKOHNGVCDMD-----CNYERFNFDDGEC
LNR-2 (PAPP-E) CR-LQGRCYSWNRDGLCHVE-----CNNMLNDFDDGDC
LNR-3 (PAPP-A) CEPFMGQNY-----CDAINNRAFCNY-----DGGDC
LNR-3 (PAPP-E) CEPFQANGW-----CDTINNRAYCHY-----DGGDC
PAPP-A LNRs C-----CD-----CNHY-----DGGDEC

```

Zinc-binding motif:

```

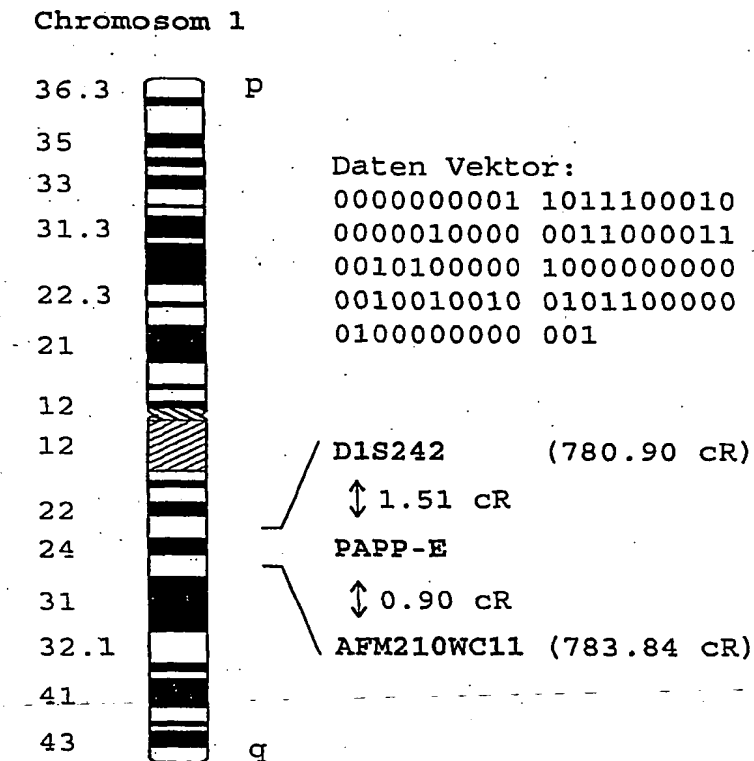
PAPP-A - HEIGHSLGLYH
PAPP-E - HEVGHVLGLYH
MMPS - HE-GH--G--H

```

Abb. 3: Vergleich der PAPP-A und PAPP-E Konsensussequenzen.  
Die PAPP-A Motive entsprechen [Kristensen 1994].

gesamtes Gehirn		Substantia nigra	Herz	Speiseröhre	Kolon, quer	Niere	Lunge	Leber	Leukämie, HL-60	fetales Gehirn	Hefe total RNA
Großhirnrinde	Kleinhirn, rechts	Nukleus accumbens	Aorta	Magen	Kolon, absteigend	Skelettmuskel	Plazenta	Pankreas	HeLa S3	fetales Herz	Hefe tRNA
Stirn-lappen	Balken	Thalamus	Atrium, links	Duodenum	Rektum	Milz	Blase	Nebenniere	Leukämie, K-562	fetale Niere	E. coli tRNA
Scheitel-lappen	Mandelkern	Hypophyse	Atrium, rechts	Jejunum		Thymus	Uterus	Schilddrüse	Leukämie, MOLT-4	fetale Leber	E. coli DNA
Hinterhauptslappen	Schleifenkern	Rückenmark	Ventrikel, links	Ileum		periphere Blutleukozyten	Prostata	Speicheldrüse	Burkitt's Lymphom, Raji	fetale Milz	poly r(A)
Schläfenlappen	Hippokampus		Ventrikel, rechts	Ileozäkum		Lymphknoten	Hoden	Brustdrüse	Burkitt's Lymphom, Daudi	fetaler Thymus	humane C <sub>β</sub> -1 RNA
Gyrus parac. der Großhirnrinde	Medulla oblongata		interventrikuläres Septum	Appendix		Knochenmark	Ovar		kolorektales Adenokarzinom, Sw480	fetale Lung	humane DNA 100 ng
Pons	Putamen		Herzspitze	Kolon, aufsteigend		Trachea			Lungenkarzinom, A549		humane DNA 500 ng

**Abb. 4:** Nachweis der gewebsspezifischen Expression des PAPP-E. Chemilumineszenz-Detektion der Hybridisierung des biotinylierten PAPP-E cDNA-Fragmentes auf dem 75 Tissue Expression Array (Clontech).



**Abb. 5:** Chromosomale Lokalisierung des PAPP-E Gens.  
 Der Daten Vektor für das Radiation Hybrid Mapping (Genebridge 4 Panel), benachbarte Marker in Zentirad (cR) und die korrespondierende cytogenetische Lokalisierung sind angegeben.